

IMPACT OF HETEROFERMENTATIVE LACTOBACILLI ON DEVELOPMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

M.Sc. Dairy Sci. FOUAD MAHMOUD FOUAD ELSHAGHABEE

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K. Heller

The objective of this work was to investigate whether ethanol produced by intestinal microbiota can promote development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) of the host. For that purpose, we established *in vitro* metabolites profiles of fermentations of different sugars (glucose, fructose, ribose, arabinose, lactose, lactulose and inulin) by defined cultures of intestinal and lactic acid bacteria (*Anaerostipes caccae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confusa*) and the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, respectively, in media for colonic bacteria (MCB). Results obtained showed that *S. cerevisiae* and the intestinal lactic acid bacterium *W. confusa* produced comparatively high amounts of ethanol in glucose and fructose fermentations. For *W. confusa*, the inability to use fructose as electron acceptor (which would yield mannitol as one metabolite) was shown to be responsible for high ethanol amounts produced from fermentation of fructose. Fermentations of prebiotic sugars (lactulose and inulin) and of pentoses resulted in comparably low amounts of produced ethanol. Supplementation of MCB medium with the dietary electron acceptors citrate and pyruvate, respectively, resulted in decreased ethanol production by *W. confusa* and by fecal slurries prepared from feces collected from four obese human volunteers. The ability of *W. confusa* to either promote or suppress development of NAFLD was evaluated in Wistar rats fed high fructose-high fat (HFru-HF) diet. The results showed that supplementation of given diet with *W. confusa* resulted in significantly increased levels of ethanol in blood and of cholesterol in plasma. Also, levels of fecal ethanol and short chain fatty acids were significantly increased as compared to rats in control group. A slight increase of hepatic index could be observed in rats fed HFru-HF diet mixed with *W. confusa*. These findings suggested that the mannitol-negative, heterofermentative *W. confusa* might promote development of NAFLD in rat model.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war zu untersuchen, ob von der Darmmikrobiota produzierter Äthanol die Entwicklung einer nicht-alkoholischen Fettleber (NAFLD) im Wirtsorganismus fördern kann. Zu diesem Zweck wurden *in vitro* Metabolitenprofile von Fermentationen verschiedener Zuckern (Glukose, Fruktose, Ribose, Arabinose, Laktose, Laktulose und Inulin) durch definierte Kulturen von intestinalen Bakterien und Milchsäurebakterien (*Anaerostipes caccae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confusa*) sowie die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* in Medium für Darmbakterien (MCB) erstellt. Die Ergebnisse zeigten, dass *S. cerevisiae* und das intestinale Milchsäurebakterium *W. confusa* vergleichsweise große Mengen an Äthanol in Glukose and Fruktose Fermentationen produzierten. Für *W. confusa* konnte gezeigt werden, dass die Unfähigkeit, Fruktose als Elektronenakzeptor zu verwenden (unter Bildung von Mannit) für die hohe Produktion von Äthanol auf Fruktose verantwortlich war. Fermentationen mit prebiotischen Zuckern (Laktulose und Inulin) und mit Pentose führten zu vergleichsweise geringen Mengen produzierten Äthanol. Supplementierung des MCB Mediums mit den diätetischen Elektronenakzeptoren Zitrat bzw. Pyruvat führten zu verringerter Äthanol Produktion durch *W. confusa* einerseits und durch fäkale Aufschlammungen von Faeces vier adipöser Freiwilliger andererseits. Die Fähigkeit von *W. confusa* entweder NAFLD zu fördern oder zu unterdrücken wurde in Wistar-Ratten bewertet, denen ein „hoch-Fruktose-hoch-Fett“ (HFru-HF) Futter verabreicht wurde. Die Ergebnisse zeigten, dass Supplementation des Futters mit *W. confusa* zu significant erhöhten Konzentrationen von Äthanol im Blut und von Cholesterin im Plasma führten. Darüber hinaus waren die Konzentrationen von Äthanol und kurzkettigen Fettsäuren in Faeces signifikant gegenüber den Kontroll-Ratten erhöht. Eine geringfügige Erhöhung des hepatischen Indexes konnte bei den Ratten beobachtet werden, deren Futter mit *W. confusa* supplementiert war. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass das Mannit-negative, heterofermentative Milchsäurebakterium *W. confusa* die Entwicklung von NAFLD im Ratten-Modell fördern könnte.